製品コード CY219

食品・環境分析用

TaKaRa

Cycleave®PCR 炭疽菌 Detection Kit Ver. 3.0

説明書

v201402Da

炭疽菌は芽胞を形成する好気性グラム陽性桿菌（1 ～ 2 × 5 ～ 10 μm）です。その病原性は 2 種類の毒性プラスミド（pX01、pX02）によるものです。pX01 プラスミドは 3 種類の毒素成分（PA：protective antigen、LF：lethal factor、EF：edema factor）をコードしています。一方、pX02 プラスミドは莢膜合成に関係する遺伝子（capA、capB、capC）をコードしています。これら 2 種類の毒性プラスミドの両方を保持する株は、病原性を示します。どちらか一方のみの毒性プラスミドを保持する株は、病原性を示しません。
本キットは pX01 プラスミドに含まれる PA 遺伝子および pX02 プラスミドに含まれる capA 遺伝子をリアルタイム PCR 専用の増幅装置 Smart Cycler II System を用いて検出するためのキットです。増幅には Hot Start PCR 用酵素、*TaKaRa Ex Taq*® HS を使用しているので、反応液調製時などサイクル前のミスプライミングやプライマーダイマーに由来する非特異的増幅を防ぐことができ、高感度の検出が可能になります。また、検出には、サイクリングプローブ法を採用しています。
サイクリングプローブ法は、RNA と DNA からなるキメラプローブと RNase H の組み合わせによる高感度な検出方法で、増幅中や増幅後の遺伝子断片の特定配列を効率良く検出することが出来ます。プローブは RNA 部を挟んで一方に蛍光物質が、他方にその蛍光物質の発する蛍光を消光する物質（クエンチャー）が標識されています。このプローブは、インタクトな状態ではクエンチングにより蛍光を発することはありませんが、増幅産物中の相補的な配列とハイブリッドを形成した後に RNase H により RNA 部分で切断されることにより、強い蛍光を発するようになります（図 1 参照）。この蛍光強度を測定することで、増幅産物量をモニターすることが出来ます。

本キットには、炭疽菌の毒性プラスミド検出用の 2 種類の FAM 標識プローブならびにインターナルコントロール検出用 TET 標識プローブが含まれています。本キットと Smart Cycler II System を組み合わせたリアルタイム PCR 法を行うことで、電気泳動が不要となり迅速に結果が得られます（約 45 分）。また本キットにはインターナルコントロールが含まれているため、偽陰性をモニターすることが出来ます。

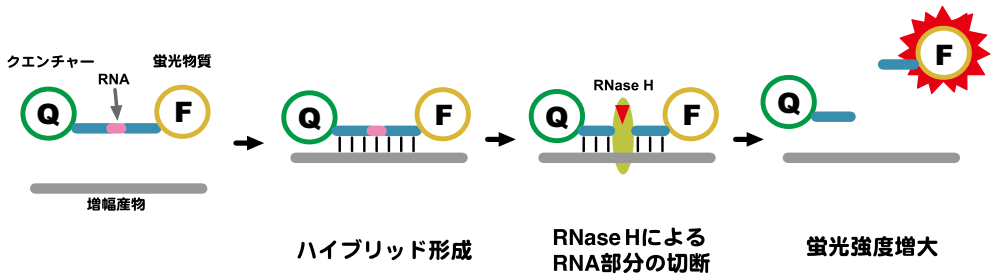


図 1．サイクリングプローブ法の原理

本キットは短時間で検出が可能な簡易検出キットです。炭疽菌であることの最終判断は、本キットの判定結果からだけでなく、グラム染色などを含めた一般的な微生物学的手法による判定結果とあわせて行ってください。

なお、本キットの製品化に当たり、帯広畜産大学畜産学部獣医学科 牧野壯一先生に御協力をいただきました。

I. キットの内容（25 μl × 96 反応分；PA 検出 48 回分および CAP 検出 48 回分）

TaKaRa Ex Taq HS	5 units/μl	25 μl（96 反応分）
Tli RNase H II＊1	200 units/μl	50 μl（96 反応分）
5 × Reaction Mixture＊2	5×conc.	500 μl（96 反応分）
PA Primer Mix（PA7, PA6）	3 μM each	250 μl（48 反応分）
CAP Primer Mix（MO11, MO25）	3 μM each	250 μl（48 反応分）
PA Probe Mix＊3 （FAM, TET 標識）	12.5 × conc.	100 μl（48 反応分）
CAP Probe Mix＊3 （FAM, TET 標識）	12.5 × conc.	100 μl（48 反応分）
PA Positive Control		20 μl（20 反応分）
CAP Positive Control		20 μl（20 反応分）
dH_2O（滅菌蒸留水）		1.3 ml

＊ 1：Tli RNase H II は *Thermococcus litoralis* 由来の耐熱性 RNase H です。
＊ 2：dNTP Mixture、Internal Control を含みます。
＊ 3：蛍光標識 Probe につき、遮光保存に留意すること。

【 Primer 配列 】

プライマー名	配列
PA7	(5'-ATCACCAGAGGCAAGACACCC-3')
PA6	(5'-ACCAATATCAAAGAACGACGC-3')
MO11	(5'-GACGGATTATGGTGCTAAG-3')
MO25	(5'-CAATAGCTCCTGCTACAAATG-3')

【 プローブ標識と増幅サイズ 】

PA Probe Mix

	プローブ蛍光色素	増幅サイズ
PA	FAM およびクエンチャー	211 bp
インターナルコントロール	TET およびクエンチャー	110 bp

CAP Probe Mix

	プローブ蛍光色素	増幅サイズ
CAP	FAM およびクエンチャー	179 bp
インターナルコントロール	TET およびクエンチャー	108 bp

II. キット以外に必要な試薬、機器（主なもの）

【 試薬 】

滅菌蒸留水

【 機器 】

1. リアルタイム PCR 装置
   Smart Cycler II System（製品コード SC200N/SC210N）
2. Smart Cycler 専用反応チューブ（製品コード SC910A/SC910C）
3. 卓上型 Smart Cycler 専用遠心機（製品コード SC900）
4. ヒートブロック（95℃まで温度を上げられるもの）

【 その他 】

1. 200 μl、20 μl、10 μl　各マイクロピペット
2. マイクロピペット用チップ（疎水性フィルター付）

III. 保存

－ 20℃（輸送、保存とも）

IV. 操作上の注意

1. Smart Cycler II System の取扱いは各々の装置の取扱説明書に従ってください。

2. 万一、キメラプローブがヌクレアーゼの混入により分解されると、正確な検出が出来ません。実験者の汗や唾液からも ヌクレアーゼが混入する可能性がありますので、操作中は細心の注意を払ってください。

3. 陽性と判定された検体は、さらに微生物学的な手法を用いて確認してください。

4. 反応液の調製から検出まで、次の 3 つのエリアを設定し、物理的に隔離することを推奨します。
   各エリアにおいては増幅産物の入ったチューブの開閉は避けてください。

   ○エリア 1：反応液の調製、分注を行います。
   ○エリア 2：検体の調製を行います。
   ○エリア 3：検体の反応液への添加と反応、および検出を行います。

本キットでは増幅反応と検出を同時にリアルタイムで行うため、反応終了後の増幅産物を電気泳動により確認する必要はありません。またコンタミネーション発生の原因となりますので、増幅産物をチューブから取り出すことはおやめください。

V. サンプルの調製（エリア 2 で実施）

【 培養液から 】

1）培養液 10 μl を滅菌蒸留水 100 μl に加え、95℃で 15 分間加熱する。
2）遠心し、その上清 1 μl を直接 PCR に使用する。

【 プレート上の菌体から 】

1）滅菌爪楊枝でごく僅かを取り、滅菌蒸留水 100 μl に懸濁する（ごく僅かに濁る程度で充分である）。
2）95℃で 15 分間加熱する。
3）遠心し、その上清 1 μl を直接 PCR に使用する。

【 粉状サンプルから 】

1）適当量（ごく僅かに濁る程度で充分）を滅菌蒸留水 1 ml に懸濁する。
2）遠心後、もう一度滅菌蒸留水 1 ml に懸濁し、洗浄する。
3）最終的に滅菌蒸留水 100 μl に懸濁する。
4）95℃で 15 分加熱する。
5）遠心し、その上清 1 μl を直接 PCR に使用する。

（注）：サンプルには危険病原体が含まれる可能性がありますので、操作には十分な注意が必要です。使用した器具類、培地および洗浄液等は定められた方法で処理してください。

VI. PCR 反応

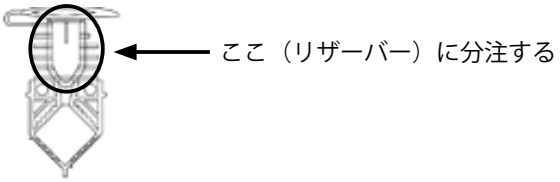
VI-A. 反応液の調製（エリア 1 で実施）

（1）下記に示す反応液を調製する。
1 検体につき PA 検出用と CAP 検出用の計 2 本のチューブを用意し、必ず別々に調製する。Template 以外のコンポーネントを必要本数＋ α 分調製し、専用チューブに分注後 Template を添加する。またネガティブコントロールとして Template のかわりに滅菌蒸留水を加えたものを PA 検出用、CAP 検出用に各 1 本ずつ調製する。さらに Template として、PA または CAP Positive Control を加えたポジティブコントロール反応を一緒に行うことをお勧めする。

	液量	final conc.
5 × Reaction Mixture	5.0 μl	1 × conc.
PA or CAP Primer Mix（3 μM each）	5.0 μl	0.6 μM each
PA or CAP Probe Mix（12.5×conc.）	2.0 μl	1 × conc.
TaKaRa Ex Taq HS（5 U/μl）	0.25 μl	0.05 U/μl
Tli RNase H II（50 U/μl）	0.5 μl	4 U/μl
Template DNA	1.0 μl	
滅菌蒸留水	11.25 μl	
total	25.0 μl	

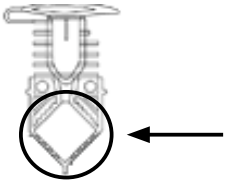
（注） PA 検出用には PA Primer Mix と PA Probe Mix の組合わせで、CAP 検出用には CAP Primer Mix と CAP Probe Mix の組合わせでご使用ください。各 Positive Control は 1 μl を添加してください。

（2）Template 以外のコンポーネント（24 μl）を Smart Cycler 専用反応チューブの矢印の部分に（側面に沿わせるように）分注する。



（エリア 3 で実施）

（3）ネガティブコントロールとして、サンプルの代わりに滅菌蒸留水を加えたものを 1 本調製後、残りのチューブについて、サンプルを、（1）で分注した調製液部分に添加する。しっかりふたをし、専用反応チューブ用遠心機で遠心を行い、チューブ下部のひし形部分に反応液を落とす。



【 Smart Cycler II System（製品コード SC200N/SC210N）の場合 】

VI-B. PCR 反応・検出（エリア 3 で実施）

1. Smart Cycler II System のセッティング
   （Smart Cycler II System の取扱いについての詳細は Smart Cycler II System に添付の取扱説明書を参照）

   （1） Smart Cycler II System を起動する。

   （2） Protocol の設定
   Define Protocols のアイコンをクリックし New Protocol ボタンをクリックして以下の設定で Protocol を作成する。（作成した Protocol は保存されるので、2 回目以降の反応では入力は不要）

   （3） Graph の設定（作成した Graph は保存されるので、2 回目以降の反応では入力は不要）

名前をつけて [OK] ボタンをクリック

Stage 1

Hold

Temp	Secs	Optics
95.0	10	Off

Stage 2

Repeat 50 times.

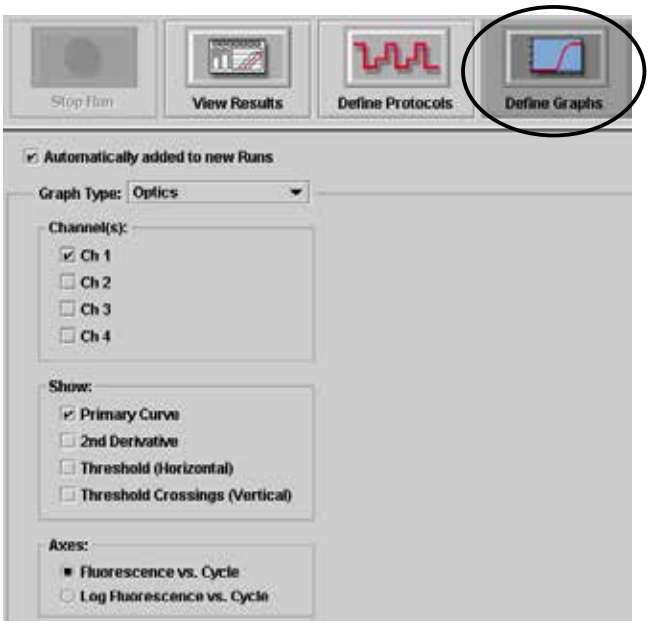
3-Temperature Cycle

Deg/Sec	Temp	Secs	Optics
NA	95.0	5	Off
NA	55.0	10	Off
NA	72.0	15	On

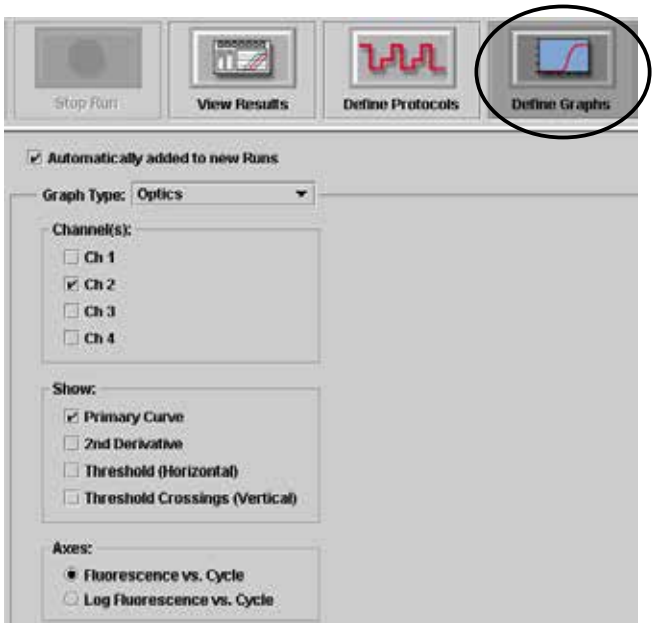
Advance to Next Stage

← このプロトコールを作成（PCR 条件）

(3) -1. 目的増幅産物検出用増幅曲線 (FAM) の設定
Define Graphs のアイコンをクリックし、以下の設定でグラフを作成する。
(初期設定では FAM というグラフ名で設定済みなので改めて作成する必要はない。)

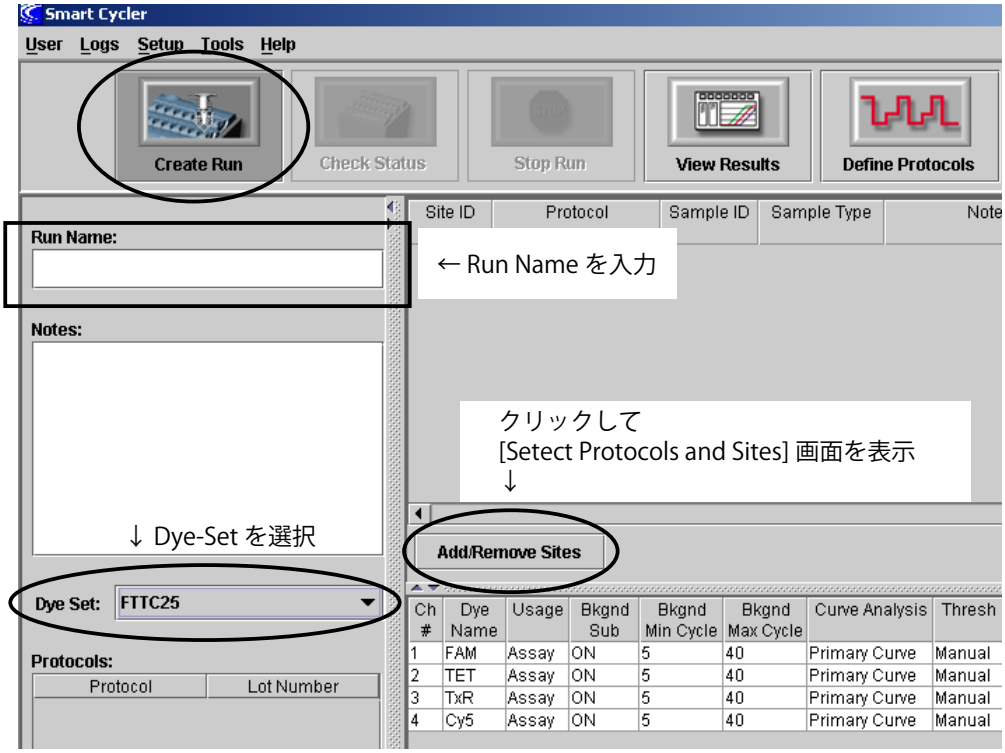


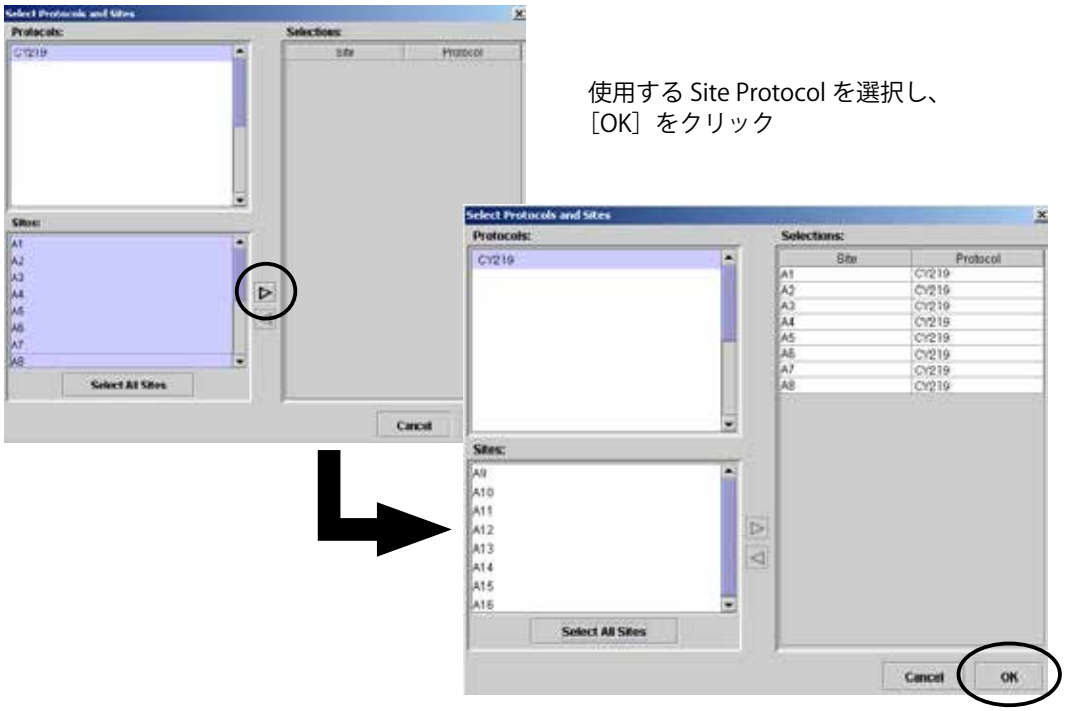
(3) -2. インターナルコントロール由来増幅産物検出用増幅曲線 (TET) の設定
Define Graphs のアイコンをクリックし、以下の設定でグラフを作成する。
(初期設定では TET というグラフ名で設定済みなので改めて作成する必要はない。)



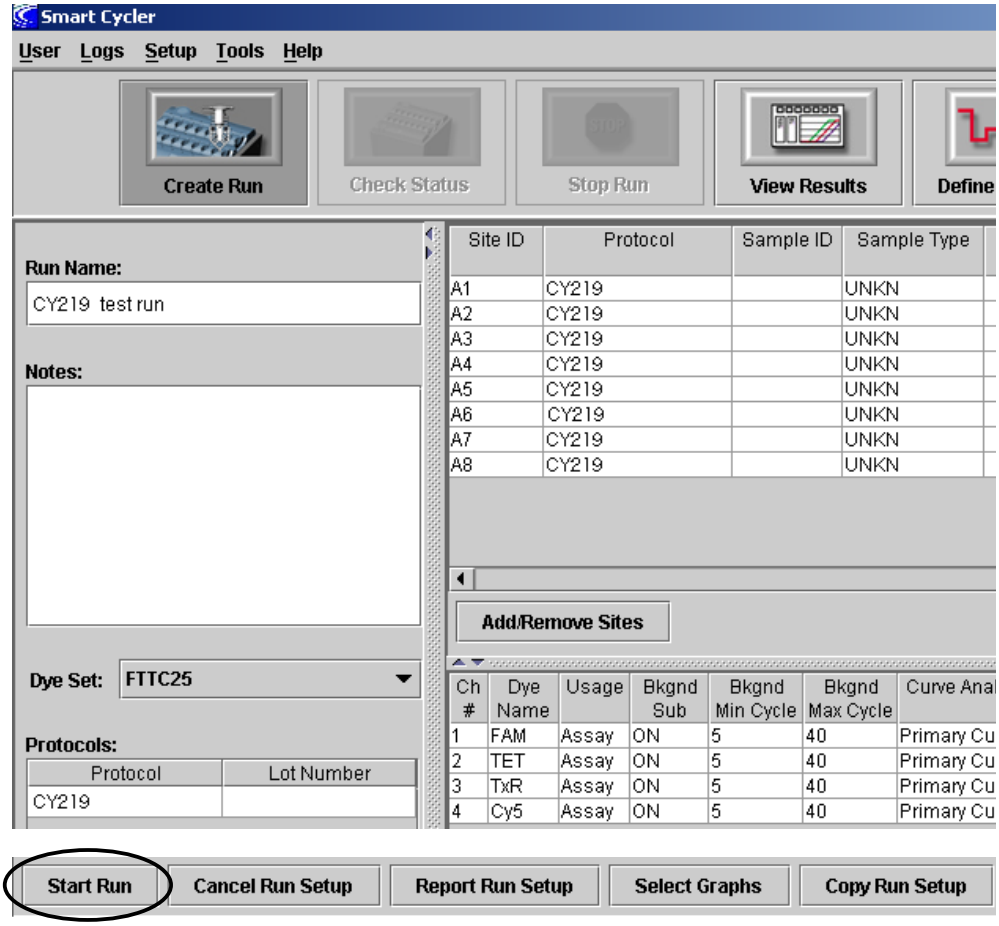
（4） 反応の設定

“Create Run” のアイコンをクリックし、Run Name を入力、Dye-Set を選択（FTTC25）する。“Add/Remove Sites” ボタンをクリックし、Select Protocols and Sites スクリーンを表示させ、使用する Protocol と Site を選択し、OK ボタンを押す。


Smart Cycler
User Logs Setup Tools Help
Create Run
Check Status
Stop Run
View Results
Define Protocols
Site ID
Protocol
Sample ID
Sample Type
Note
Run Name:
← Run Name を入力
Notes:
クリックして
[Setect Protocols and Sites] 画面を表示
↓
↓ Dye-Set を選択
Add/Remove Sites
Dye Set: FTTC25
Protocols:
Protocol
Lot Number
Ch # | Dye Name | Usage | Bkgnd Sub | Bkgnd Min Cycle | Bkgnd Max Cycle | Curve Analysis | Thresh
1 | FAM | Assay | ON | 5 | 40 | Primary Curve | Manual
2 | TET | Assay | ON | 5 | 40 | Primary Curve | Manual
3 | TxR | Assay | ON | 5 | 40 | Primary Curve | Manual
4 | Cy5 | Assay | ON | 5 | 40 | Primary Curve | Manual

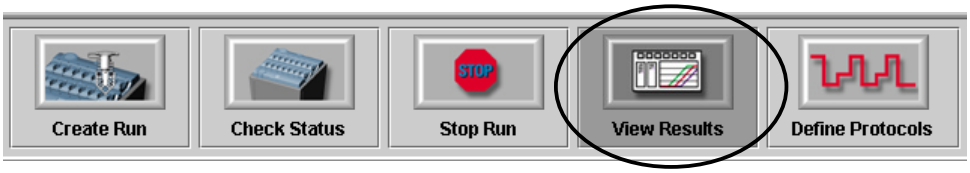


（5） 反応チューブを Smart Cycler II System にセットし Start Run ボタンをクリックして反応を開始する。

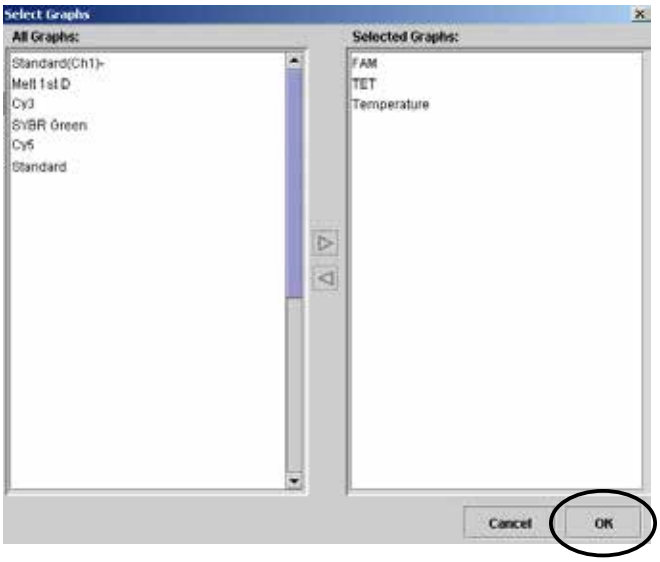


2. 結果表示

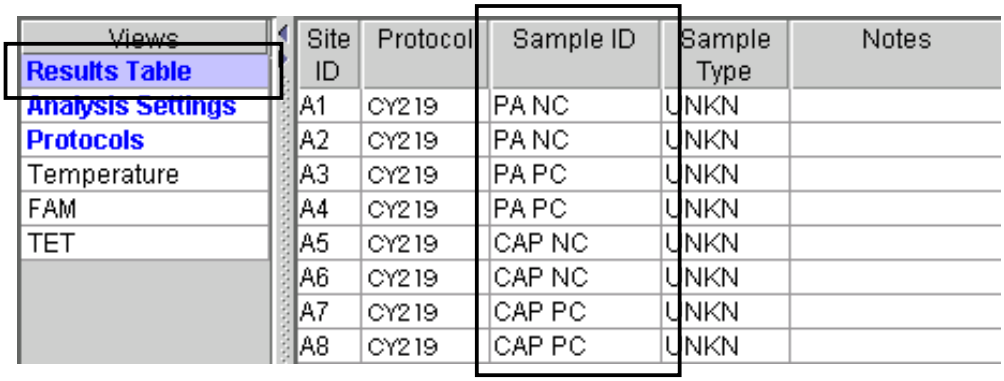
（1）View Results 画面を表示する。（反応をスタートすると自動的に View Results 画面が表示される。別の画面が表示されている場合は View Results アイコンをクリックする。）



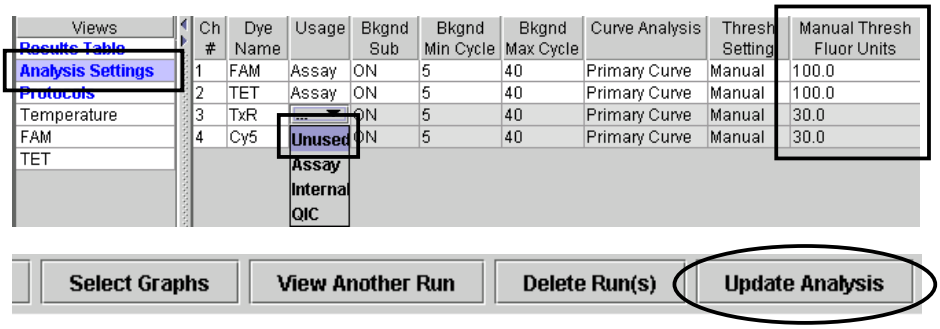
（2）Select Graphs ボタンをクリックし、Select Graphs スクリーンを表示して FAM（目的増幅産物用増幅曲線）と TET（インターナルコントロール由来増幅曲線）と Temperature（温度チャート表示グラフ）を選択する。



（3）Views リストの Results Table をクリックし表示、Sample ID を入力する。

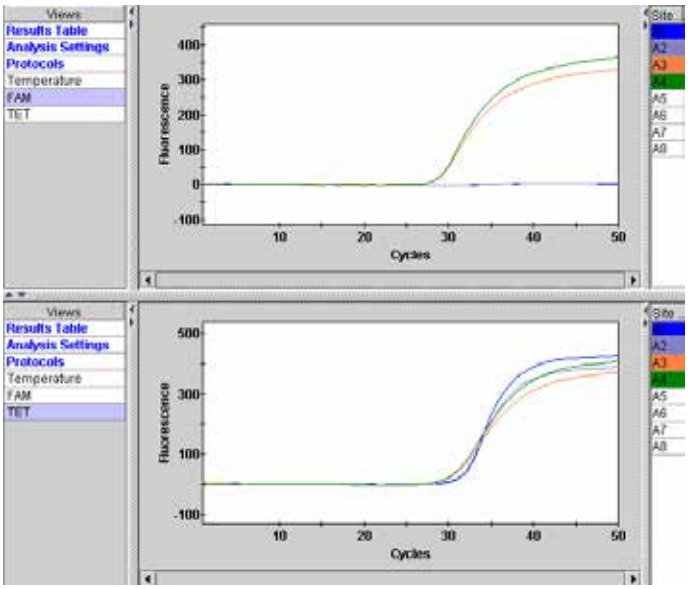


(4) Analysis Settings をクリックし表示、Ch# 3 および Ch# 4 の Usage をクリックして、プルダウンメニューより Unused を選択する。（この設定が有効後は Results Table で使用しない Ch のデータは非表示になる。）
Ch# 1 および Ch# 2 の Manual Thresh Fluor. Units を 100 に設定する。これが cut off 値となる。（セルに数値を入力後画面の Update Analysis ボタンをクリックすることで設定が有効になる。）



(5) 上部の Views で FAM を選択し目的増幅産物の増幅曲線をリアルタイムでモニタリングする。（反応開始後、しばらくしてからグラフが描かれる。）

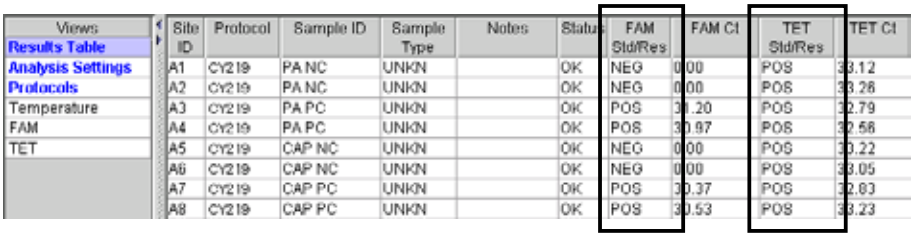
(6) 下部の Views で TET を選択しインターナルコントロール由来増幅産物の増幅曲線をリアルタイムでモニタリングする。（反応開始後、しばらくしてからグラフが描かれる。）



FAM シグナル（PA あるいは CAP 遺伝子検出シグナル）の増幅曲線

TET のシグナル（インターナルコントロール検出のシグナル）の増幅曲線

（7） 反応終了後、Results Table をクリックし表示、FAM（Ch# 1）Std/Res（Standard/Results）および TET（Ch# 2）Std/Res（Standard/Results）の列を見て検出結果を確認する。PA あるいは CAP 遺伝子の増幅産物由来の蛍光シグナル値が 100 以上の場合は POS と表示され、100 未満の場合は NEG と表示される。



Views	Site ID	Protocol	Sample ID	Sample Type	Notes	Status	FAM Std/Res	FAM Ct	TET Std/Res	TET Ct
Results Table	A1	CY219	PA NC	UNKN		OK	NEG	0.00	POS	33.12
Analysis Settings	A2	CY219	PA NC	UNKN		OK	NEG	0.00	POS	33.26
Protocols	A3	CY219	PA PC	UNKN		OK	POS	31.20	POS	32.79
Temperature	A4	CY219	PA PC	UNKN		OK	POS	30.97	POS	32.56
FAM	A5	CY219	CAP NC	UNKN		OK	NEG	0.00	POS	30.22
TET	A6	CY219	CAP NC	UNKN		OK	NEG	0.00	POS	33.05
	A7	CY219	CAP PC	UNKN		OK	POS	30.37	POS	32.83
	A8	CY219	CAP PC	UNKN		OK	POS	30.53	POS	33.23

VII. 判定

50 cycles のリアルタイム PCR において FAM の検出蛍光シグナル値が 100 以上を示した場合、Results Table の FAM Std/Res（PA または CAP 遺伝子由来蛍光シグナルの検出結果）に POS と表示され、100 未満の場合 NEG と表示される。
また、TET Std/Res（インターナルコントロール由来蛍光シグナルの検出結果）も同様に表示される。これらの結果表示より下記の判定結果表を参照し判定を行う。

（注）増幅産物以外のシグナルノイズなどにより誤って FAM Std/Res または TET Std/Res が POS と表示される場合があります。必ず増幅曲線の形状をみてシグモイドを描いていることを確認の上、判定を行ってください。
→トラブルシューティング（4）参照（16 ページ）

判定結果表 1：サンプルを添加した場合（各コントロール反応の結果と合わせて最終判定を行うこと）

		TET Std/Res（インターナルコントロール）	
		POS	NEG
FAM Std/Res（ターゲット）	POS	PA あるいは CAP 陽性＊1	PA あるいは CAP 陽性＊1
	NEG	PA あるいは CAP 検出限界以下＊2	判定不能＊3

判定結果表 2：ポジティブコントロール反応

		TET Std/Res（インターナルコントロール）	
		POS	NEG
FAM Std/Res（ターゲット）	POS	PA あるいは CAP 検出系に問題なし	PA あるいは CAP 検出系に問題なし
	NEG	PA あるいは CAP 検出系に問題あり＊4	判定不能＊3

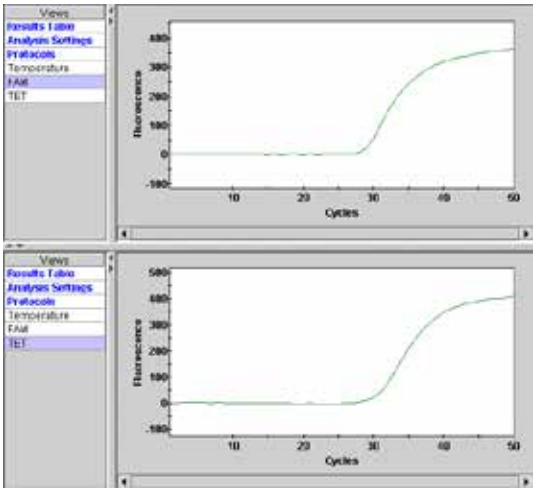
判定結果表 3：ネガティブコントロール反応

		TET Std/Res（インターナルコントロール）	
		POS	NEG
FAM Std/Res（ターゲット）	POS	PA あるいは CAP コンタミネーションの疑い＊5	PA あるいは CAP コンタミネーションの疑い＊5
	NEG	PA あるいは CAP コンタミネーションはない	判定不能＊3

＊1：インターナルコントロールの POS/NEG に関わらず、PA あるいは CAP 遺伝子が陽性である。ネガティブコントロール反応の結果から、反応系にコンタミネーションが無かったことを確認すること。
＊2：ポジティブコントロール反応で POS となる（反応系に問題が無い）ことを確認すること。
＊3：何らかの原因で PCR 反応またはサイクルプローブ検出が正常に行われていない。再反応を行う。サンプル中に反応阻害物質が含まれている可能性もあるので、場合によっては検体の再調製が必要。
＊4：ターゲット増幅用プライマーあるいはターゲット検出用プローブに問題があるか、ポジティブコントロールが分解している。
＊5：コンタミネーションの疑いがある場合は、反応液の調製場所および使用する機器を除染したうえで再反応を行う。

○反応例

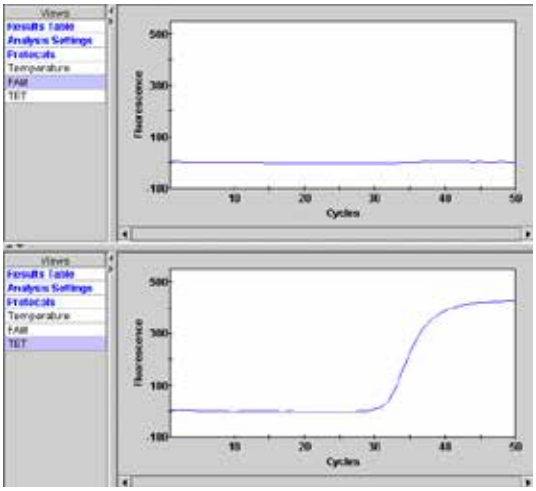
（1）PA 陽性コントロールを Template とした場合の増幅曲線



FAM の増幅曲線。PA 陽性コントロール増幅産物由来の蛍光シグナルにより増幅曲線が描かれる。

TET の増幅曲線。インターナルコントロール増幅産物由来の蛍光シグナルにより増幅曲線が描かれ、蛍光値は 100 を超えている。

（2）PA ネガティブコントロール（滅菌蒸留水）を Template とした場合の増幅曲線

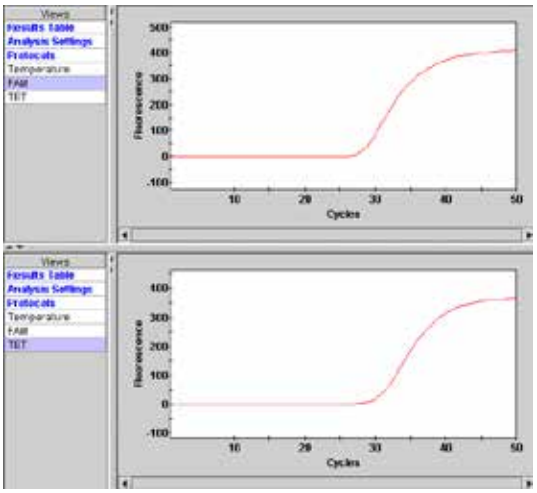


FAM の増幅曲線。ネガティブコントロールでは Template となる DNA が存在しないので蛍光シグナルは増加しない（蛍光シグナルが 100 未満のバックグラウンドは見られる＊）。

TET の増幅曲線。インターナルコントロール増幅産物由来の蛍光シグナルにより増幅曲線が描かれ、蛍光値は 100 を超えている。

＊：検出された蛍光シグナルが弱い場合、そのときのシグナル値にグラフの Y 軸のスケールが自動的に調整されてしまうため、見かけ上シグナルが増加し増幅曲線が描かれているように見えてしまうことがある。Y 軸を手動で調整する方法は 17 ページのトラブルシューティング（5）を参照。

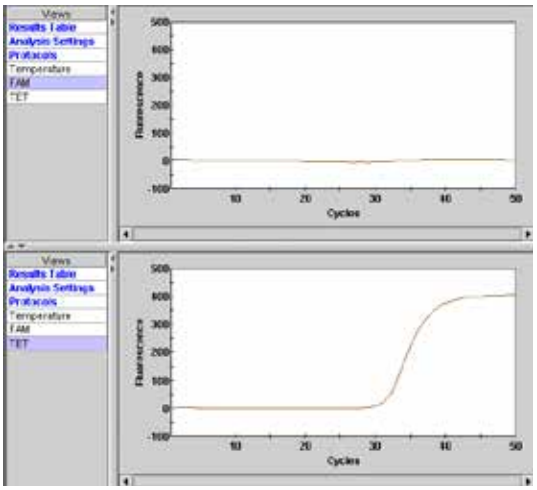
（3）CAP 陽性コントロールを Template とした場合の増幅曲線



FAM の増幅曲線。CAP 陽性コントロール増幅産物由来の蛍光シグナルにより増幅曲線が描かれ、蛍光値は 100 を超えている。

TET の増幅曲線。インターナルコントロール増幅産物由来の蛍光シグナルにより増幅曲線が描かれ、蛍光値は 100 を超えている。

（4）CAP ネガティブコントロール（滅菌蒸留水）を Template とした場合の増幅曲線

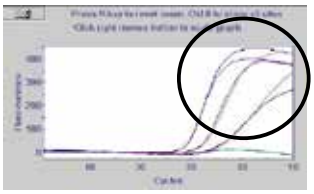
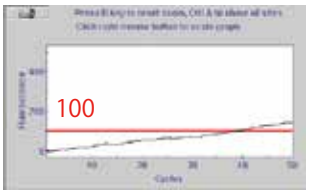
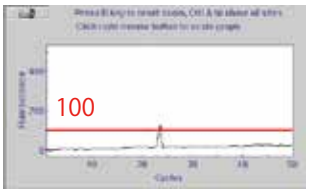


FAM の増幅曲線。ネガティブコントロールでは Template となる DNA が存在しないので蛍光シグナルは増加しない（蛍光シグナルが 100 未満のバックグラウンドは見られる＊）。

TET の増幅曲線。インターナルコントロール増幅産物由来の蛍光シグナルにより増幅曲線が描かれ、蛍光値は 100 を超えている。

＊：検出された蛍光シグナルが弱い場合、そのときのシグナル値にグラフの Y 軸のスケールが自動的に調整されてしまうため、見かけ上シグナルが増加し増幅曲線が描かれているように見えてしまうことがある。Y 軸を手動で調整する方法は 17 ページのトラブルシューティング（5）を参照。

VIII. トラブルシューティング

(1) シグナルが全く得られない、シグナルが弱い。	• 検体のかわりに滅菌蒸留水を用いた Negative control の反応で TET のシグナルが得られ、Positive control の反応で FAM のシグナルが得られている場合には、反応試薬や設定、操作方法に問題はないと考えられます。 • 検体 DNA の純度を確認してください。検体 DNA に反応を阻害する物質が含まれている可能性がありますので、再度調製を行うか、再精製を行ってください。 • リアルタイム PCR 装置の点検を行って、設定された温度が正しいかどうか確認してください。 • 操作方法に間違いがないか説明書をもう一度よく読んで確認してください。 • 検体の反応を行うときに必ず Negative および Positive control を用いた反応を行うことをお勧めします。
(2) すべてのサンプルで FAM、TET の Std/Res の表示が両方とも POS になる。	• 検体のかわりに滅菌蒸留水を用いた Negative control の反応を行ってみてください。この場合も同じように FAM 、TET とも POS となる場合は、試薬などに増幅産物などがコンタミネーションしているものと考えられます。本説明書を参照の上、コンタミネーションには最大限の注意を払ってください。 • チューブ間のクロスコンタミネーションについては、エアロゾルの発生をできる限り防止するように、検体 DNA を含むチューブの開閉などの際は十分注意してください。 • 反応終了後の増幅産物をチューブから取りだすことは避けてください。
(3) FAM あるいは TET の Std/Res の表示が POS または NEG と表示されずに数値が表示される。	• “Results Table” の Sample Type が “STD” に設定されていると数値表示になります。Sample Type の列はすべて “UNKN” にしてください。
(4) 増幅産物以外のシグナルノイズなどにより、過って POS と表示されてしまう。	• 増幅曲線を見て判断します。結果が紛らわしい場合は再反応を行ってください。  増幅産物由来の増幅曲線（シグモイド曲線を描く）   増幅産物以外のシグナル上昇

(5) 蛍光強度シグナルの増幅曲線を表示した時にバックグラウンドが高く見える。	・検出された蛍光強度の変化に微弱なものがあり、そのシグナル値に Y 軸のスケールが自動的に調整されていると思われます。Y 軸のスケールを手動で調整してください。 調整方法 1. Y 軸の目盛り付近をマウスで右クリックしてポップアップメニューより “Scale Graph” を選択し、“Axes Graph Scale” スクリーンを表示させます。 2. y. Axes (Fl.) の Max に適当な数値 (例えば Positive control 反応の Y 軸の値) を入力し、“Apply” ボタンをクリックします。 3. “Exit” ボタンをクリックして “Axes Graph Scale” スクリーンを閉じます。 なお、反応中はスケールを変更することはできません。すべての反応が終了してから行ってください。

IX. 参考文献

1）H. I. Cheun, S.-I. Makino, M. Watarai, T. Shirahata, I. Uchida and K. Takeshi (2001) A simple and sensitive detection system for Bacillus anthracis in meat and tissue. *Journal of Applied Microbiology* **91**, 421-426.

2）S.-I. Makino, H. I. Cheun, M. Watarai, I. Uchida and K. Takeshi (2001) Detection of anthrax spores from the air by real-time PCR. *Letters in Applied Microbiology* **33**, 237-240.

3）SOU-ICHI MAKINO, YUKIKO IINUMA-OKADA, TSUTOMU MARUYAMA, TAKAYUKI EZAKI, CHIHIRO SASAKAWA, AND MASANOSUKE YOSHIKAWA (1993) Direct Detection of Bacillus anthracis DNA in Animals by Polymerase Reaction. *Journal of Clinical Microbiology* **31** (3), 547-551.

4）SOU-ICHI MAKINO, IKUO UCHIDA, NOBUYUKI TERAKADO, CHIHIRO SASAKAWA, AND MASANOSUKE YOSHIKAWA (1989) Molecular Characterization and Protein Analysisnof the cap Region,Which Is Essential for Encapsulation in Bacillus anthracis. *Journal of Bacteriology* **171** (2), 722-730.

5）S. Makino, C. Sasakawa, I. Uchida, N. Terakado and M. Yoshikawa (1988) Cloning and CO^2-dependent expression of the genetic region for encapsulation from Bacillus anthracis. *Molecular Microbiology* **2** (3), 371-375.

X. 関連製品

Smart Cycler II System（製品コード SC200N/SC210N）

XI. 注意

- 本製品は食品分析および環境分析用試薬です。ヒト、動物への医療、臨床診断には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。検査結果判定により発生する問題に関してタカラバイオ株式会社は一切の責任を負いません。
- タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
- ライセンスに関する最新の情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
- Cycleave、*TaKaRa Ex Taq* はタカラバイオの登録商標です。その他、本説明書に記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

NOTICE TO PURCHASER: LIMITED LIDENSE

[M40] Thermostable RNase H
This product is covered by the claims of U.S. Patent No. 7,422,888 and its foreign counterpart patent claims.

[M46] PCR-Cycleave
This product is covered by the claims of Japanese Patent No. 4022522.

[M57] LA Technology
This product is covered by the claims 6-16 outside the U.S. corresponding to the expired U.S. Patent No. 5,436,149.

製品についての技術的なお問い合わせ先
TaKaRa テクニカルサポートライン
Tel 077-543-6116　Fax 077-543-1977
ホームページアドレス http://www.takara-bio.co.jp/

タカラバイオ株式会社

v201402Da